

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局



(43) 国际公布日:

2005年6月2日(02.06.2005)

PCT

(10) 国际公布号:

WO 2005/050196 A1

(51) 国际分类号: G01N 33/48, B01D 59/28, C01B 4/00

(21) 国际申请号: PCT/CN2004/000939

(22) 国际申请日: 2004年8月12日(12.08.2004)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
03142290.X 2003年8月13日(13.08.2003) CN

(71) 申请人(对除美国以外的所有指定国): 浙江普康生物技术股份有限公司(ZHEJIANG PUKANG BIOTECHNOLOGY CO., LTD.) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市天目山路182号, Zhejiang 310013 (CN)。浙江大学(ZHEJIANG UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市玉古路20号, Zhejiang 310027 (CN)。浙江省医学科学院(ZHEJIANG ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市天目山路182号, Zhejiang 310013 (CN)。

(72) 发明人: 及

(75) 发明人/申请人(仅对美国): 毛江森(MAO, Jiangsen) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市天目山路182号, Zhejiang 310013 (CN)。刘子阳(LIU, Ziyang) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市玉古路20号, Zhejiang 310027 (CN)。唐彩华(TANG, Caihua) [CN/CN]; 贺义惠(HE, Yihui) [CN/CN]; 朱家鸿(ZHU, Jiahong) [CN/CN]; 陈悦青(CHEN, Yueqing) [CN/CN]; 毛子旭(MAO, Zixu) [CN/CN]; 柴少爱(CHAI, Shaoai) [CN/CN]; 中国浙江省杭州市天目山路182号, Zhejiang 310013 (CN)。

(74) 代理人: 中国国际贸易促进委员会专利商标事务所 (CCPIT PATENT AND TRADEMARK LAW OFFICE); 中国北京市阜成门外大街2号万通新世界广场8层, Beijing 100037 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚专利(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧洲专利(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

本国际公布:
— 包括国际检索报告。

所引用双字母代码和其它缩写符号, 请参考刊登在每期 PCT 公报期刊起始的“代码及缩写符号简要说明”。

(54) Title: METHOD OF CONFIRMING HYDROGEN/DEUTERIUM EXCHANGE IN CONSTRUCTIONS OF BIOLOGICAL SAMPLES AND DETERMINING THE PERCENTAGE OF DEUTERIUM IN BIOLOGICAL SAMPLES

(54) 发明名称: 证实生物样品结构中氢氘置换以及测定氘百分含量的方法

(57) Abstract: The invention provides a method of analyzing hydrogen isotope, especially a method of confirming hydrogen/deuterium exchange in constructions of biological samples and determining the percentage of deuterium in biological samples. The method comprises the following steps: selecting a matrix, mixing uniformly the prepared biological sample with a suitable amount of the matrix, then lyophilizing; the lyophilized mixture burns completely with an oxidant, so hydrogen in the mixed sample is oxidized into water; after separating, the water obtained reacts with zinc to produce hydrogen gas; then measuring $^2\text{H}/^1\text{H}$ ratio in hydrogen gas by a gas isotope mass spectrograph; calculating the percentage of deuterium in biological samples increases, the biological properties, mainly thermostabilization, of samples will change obviously. By determining the percentage of deuterium for biological samples with the optimal thermostabilization and the optical deuterium treatment conditions for biological samples, the stability of biological samples such as polypeptide will improve. The method is simple and easy to operate, with good reproducibility and low costs.

[见续页]

WO 2005/050196 A1



(57) 摘要

本发明提供一种分析氢同位素的方法，特别是一种用于证实生物样品结构中氢氘置换以及测定生物样品氘百分含量的方法。它包括如下步骤：选取一种基质，将制备得到的生物样品与适量的基质均匀混合再冻干，冻干混合样品被氧化剂充分燃烧氧化，使混合样品中的氢被氧化为水，生成的水经分离后与锌反应生成氢气，氢气的 $^2\text{H}/^1\text{H}$ 比值用气体同位素质谱仪测定，再通过计算公式计算出生物样品中氘的百分含量。随着生物样品的氘百分含量增大，其生物性状发生明显改变，主要是其耐热性发生明显改变。确定出生物样品最优耐热性的氘百分含量和生物样品的最优氘化条件，提高多肽等生物样品的稳定性。该方法测定重复性好，简单易操作，样品用量少，成本低。